

BAB. I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Talasemia, pertama kali ditemukan oleh Thomas Cooley dan Pearl Lee pada tahun 1925 di Italia pada anak-anak dengan kelainan klinis berupa anemia berat, splenomegali dan perubahan tulang. Talasemia sendiri berasal dari kata Latin yang terdiri dari “*thalassa*” yang berarti laut dan “*haima*” atau darah. Talasemia merupakan suatu grup kelainan hereditas dengan ciri khas penurunan atau tidak adanya sintesis salah satu rantai globin sehingga menyebabkan gangguan struktur normal rantai globin yang terdiri dari 3 (tiga) bagian antara lain talasemia mayor, talasemia intermedia dan talasemia minor yang kemudian dikenal “*beta-thalassemia carrier*”, “*beta-thalassemia trait*” atau “*heterozygous beta-thalassemia*” (Olivieri, 1999; Galanello dan Origa, 2010).

Kelainan hemoglobin berupa gangguan ketidakseimbangan antara rantai alfa dan beta pertama kali dikemukakan oleh Nathan dan Gunn pada tahun 1966. Talasemia ini banyak terdapat pada pasien anak dan dewasa. Terdapat kurang lebih 200 *point mutation* pada pasien talasemia beta. Kelainan berupa substitusi nukleotida gen dalam suatu kelompok pada kromosom 11 juga menyebabkan terjadinya talasemia beta. Kedua kelainan ini menyebabkan menurunnya sintesis rantai beta globin yang menimbulkan anemia pada pasien talasemia beta (Olivieri, 1999).

Prevalensi talasemia beta sering terdapat di negara Mediteranian, Timur Tengah, Asia Tengah, Cina Selatan. Faktor yang mempengaruhi penyebaran

talasemia antara lain proses migrasi suatu populasi dan pernikahan antar etnis di berbagai bagian dunia. Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2010, penderita talasemia terbanyak adalah anak-anak sebesar 17% dan 3,4% berakhir meninggal pada usia kurang dari 5 tahun (Modell dan Darlison, 2008; Cao dan Galanello, 2010; Surapon, 2011).

Gejala klinis penderita talasemia beta mayor (TBM) biasanya mulai tampak pada satu tahun pertama, diantaranya anemia yang disebabkan oleh hemolisis dan proses eritropoiesis yang tidak efektif sehingga membutuhkan transfusi darah secara regular. Pemberian transfusi secara regular juga menimbulkan risiko penimbunan besi pada organ dalam antara lain jantung, hepar, dan ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ yang sering terkena efek samping pemberian transfusi selain organ lainnya seperti jantung dan hepar sehingga untuk mencegah terjadinya penimbunan besi perlu diberi khelasi besi. Beberapa penelitian menyatakan kerusakan fungsi ginjal ini dapat bersifat akut maupun kronik sehingga perlu dilakukan penelitian menggunakan penanda yang spesifik (Piga *et al.*, 2009; Cao dan Galanello, 2010; Musallam dan Taher, 2012).

Penimbunan besi di jaringan akibat pemberian transfusi pada jaringan bisa terjadi dalam jangka waktu satu tahun sehingga fungsi organ-organ vital seperti jantung, hepar dan ginjal akan mengalami kemunduran, berakhir dengan terbentuknya jaringan fibrosis. Penimbunan besi yaitu feritin menghasilkan besi bebas yang bersifat reaktif atau radikal bebas yang menyerang membran lipid sehingga mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan oleh Wirawan *et*

al. tahun 2003, Quinn *et al.* tahun 2011 dan Elbedewy *et al.* tahun 2015 menyatakan kelainan yang terjadi pada ginjal pasien TBM terjadi pada glomerulus dan tubulus ginjal, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Sadeghi-Bojd *et al.* tahun 2008 dan Ahmadzadeh *et al.* tahun 2011 menyatakan kerusakan terjadi di tubulus proksimal. Kerusakan ginjal pasien TBM terjadi melalui 3 mekanisme, yaitu anemia kronik, penimbunan besi, dan efek samping nefrotoksisitas akibat pemberian khelasi besi (Wirawan *et al.*, 2003; Sadeghi-Bojd *et al.*, 2008; Hamed dan ElMelegy, 2010; Ahmadzadeh *et al.*, 2011; Elbedewy *et al.*, 2015).

Penilaian fungsi ginjal pada pasien TBM dapat dilakukan dengan klirens kreatinin dan estimasi *glomerular filtration rate* (GFR). Definisi GFR sendiri adalah suatu metode untuk menilai penurunan fungsi ginjal $< 60 \text{ mL/menit/1,73m}^2$ dan atau terdapat bukti kerusakan ginjal yang umumnya ditemukan proteinuria atau albuminuria dalam jangka waktu kurang lebih 3 bulan. Beberapa penelitian yang dilakukan oleh Schwartz dan Work (2009) serta Ware *et al.* (2010) menyatakan bahwa hasil klirens kreatinin normal, tidak akurat dan tidak berkorelasi dengan GFR. Papassotiriou *et al.* pada tahun 2010 yang meneliti fungsi ginjal menggunakan GFR dan cystatin C, menyimpulkan bahwa cystatin C merupakan penanda yang lemah untuk pemeriksaan fungsi ginjal yang berkaitan dengan kelainan kardiovaskular dan mortalitas sehingga dibutuhkan pemeriksaan dengan penanda yang lebih baik (Hamed dan ElMelegy, 2010; Bhandari dan Galanello, 2012; Johnson *et al.*, 2012).

Pada kondisi gagal ginjal akut (GGA) maupun kronis dapat terjadi peningkatan kadar kreatinin serum, diperkirakan lebih dari 50% fungsi ginjal sudah

rusak sebelum serum kreatinin meningkat. Kreatinin serum juga tidak menggambarkan penurunan GFR pada kondisi akut, ataupun kronik. Pengukuran GFR pada pasien anak TBM tidak akurat oleh karena rendahnya massa otot disebabkan peningkatan serum kreatinin sehingga terjadi overestimasi GFR, oleh karena itu diperlukan penanda yang lebih valid (Bolignano *et al.*, 2008; Devarajan, 2010; Quinn *et al.*, 2011; Mussap dan Cibecchini, 2013).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) adalah suatu protein yang berasal dari lipocalin *superfamily*, mempunyai ukuran 25 kilo Dalton (kDa) berikatan secara kovalen dengan *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9). *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* urin merupakan bagian dari netrofil yang juga berperan pada sistem imunitas, membentuk struktur hidrofobik berbentuk *barrel-shaped* dengan *hydrophobic calyx* untuk mengikat molekul lipofilik. Ligan terbanyak NGAL adalah *siderophores* yaitu suatu molekul besi berukuran kecil. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* merupakan penanda kelainan ginjal yang lebih spesifik dibanding penanda lainnya seperti serum kreatinin dan GFR karena serum kreatinin dipengaruhi oleh faktor usia, jenis kelamin, massa otot, metabolisme otot, obat-obatan, status hidrasi, nutrisi. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* mempunyai kelebihan dapat mendeteksi gangguan ginjal akut secara awal dalam waktu 34 jam lebih dini dari kreatinin, pengambilan sampel secara non invasif dan disekresikan dari sel epitel tubulus bila terjadi gangguan atau kerusakan ginjal seperti GGA (Bolignano *et al.*, 2008; Devarajan, 2010; Quinn *et al.*, 2011; Mussap dan Cibecchini, 2013).

Pada pasien GGA yang dirawat di *intensive care unit* (ICU) pernah dilakukan penelitian *cross-sectional* didapatkan peningkatan 10 kali konsentrasi NGAL plasma dan 100 kali NGAL urin dibandingkan pada pasien normal. Plasma dan NGAL urin berkorelasi dengan NGAL serum. Penelitian retrospektif pernah dilakukan pada pasien anak yang menjalani operasi *bypass* jantung dan paru-paru, terdeteksi GGA pada 28% subyek ditandai dengan peningkatan serum kreatinin sebesar 50%. Tetapi diagnosis tersebut terdeteksi selama 1-3 hari paska operasi. Sedangkan pemeriksaan dengan NGAL menggunakan *western blot* dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menunjukkan peningkatan sebesar 10 kali lipat di urin dan plasma dalam jangka waktu 2 sampai dengan 6 jam pada saat pasien dioperasi. Pemeriksaan NGAL urin dan plasma dapat menentukan insiden GGA sebagai prediktor independen dan untuk diagnosis maupun monitoring terapi gagal ginjal kronik (GGK) (Devarajan *et al.*, 2008).

Pada beberapa literatur menyatakan NGAL sebagai penanda GGK, hal ini diteliti dari 45 pasien GGK disebabkan oleh *renal dysplasia*, *obstructive uropathy* dan *glomerular cystic diseases*, kadar NGAL plasma berbanding terbalik dengan GFR. Bila fungsi ginjal menurun <30 mL/min, performa NGAL mengalahkan cystatin C sebagai penanda GGK. Pada penelitian pasien GGK yang disebabkan glomerulonefritis kronik menyatakan rerata NGAL urin meningkat pada pasien GGK. Penanda NGAL plasma dan urin juga menggambarkan keparahan GGK pada pasien *autosomal dominant polycystic kidney disease*. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* urin juga diteliti dapat menggambarkan sebagai penanda awal derajat

keparahan kerusakan tubulointerstitial kronik pada pasien IgA nefropati (Devarajan *et al.*, 2008).

Feritin merupakan suatu protein intraseluler, dipilih sebagai penanda kelebihan besi karena merupakan protein untuk menyimpan cadangan besi yang berlebih. Sejumlah kecil feritin dapat terdeteksi dalam serum dan dapat dipakai untuk menggambarkan cadangan besi dalam tubuh. Feritin dalam bentuk sitosolik terdiri dari dua bentuk yaitu tipe H yang terdapat di jantung dan ginjal, dan tipe L di hati dan limpa. Kadar serum feritin normal 15-300 µg/l. Kandungan besi dalam tubuh diatur oleh suatu mekanisme kontrol penyerapan besi di saluran pencernaan bagian atas (Torti dan Suzy, 2002; Ogilvie dan Fitzsimons, 2012; Porter dan Viprakasit, 2014).

Sintesis feritin diregulasi oleh sitokin pada saat pertumbuhan, diferensiasi selular, proliferasi, dan inflamasi. Ekspresi feritin dipengaruhi oleh terjadinya stress oksidatif, hormon, serta kondisi hipoksia-iskemia. Penelitian Hammoudeh dan Mahdi tahun 2011, Mishra dan Tawari tahun 2013 yang kemudian diperkuat *Thalassemia International Federation* (TIF) yang mendefinisikan hiperferitinemia sebagai peningkatan kadar feritin diatas 2500 ng/ml. Hiperferitinemia berhubungan dengan kondisi inflamasi seperti sepsis, *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS), *multiorgan dysfunction syndrome* (MODS). Pada kondisi kritis, hiperferitinemia berhubungan dengan derajat keparahan penyakit yang diderita (Hammoudeh dan Mahdi, 2011; Mishra dan Tawari, 2013; Rosario *et al.*, 2013).

Besi mulai tertimbun di jaringan parenkim kurang lebih setelah 1 tahun pasca transfusi yang kemudian menimbulkan senyawa toksik. Hal ini didukung oleh

penelitian yang dilakukan oleh Mishra dan Tiwari (2013) dengan hasil kadar rerata feritin lebih tinggi dari nilai rujukan pada organ hati karena hati merupakan tempat penyimpanan feritin terbanyak dalam tubuh. Feritin digunakan sebagai penanda kelebihan tubuh karena mudah diperiksa dan terjangkau biayanya. Penurunan kadar feritin merupakan penanda baik penurunan deposit besi dalam tubuh, sebaliknya peningkatan feritin menandakan terjadinya peningkatan timbunan besi, inflamasi atau kerusakan jaringan (Torti dan Suzy, 2002; Ogilvie dan Fitzsimons, 2012; Porter dan Viprakasit, 2014). Belum diketahui apakah fungsi ginjal yang dilihat dari peningkatan kadar NGAL dalam urin sebagai penanda gangguan fungsi tubulus proksimal berkorelasi dengan keadaan hiperferitinemia. Dari latar belakang inilah penulis ingin meneliti korelasi antara kadar NGAL urin dengan status hiperferitinemia pada anak dengan TBM.

B. Perumusan Masalah

1. Kasus TBM banyak dijumpai pada praktek klinik, menurut data WHO tahun 2010 didapatkan 17% kasus TBM. Destruksi eritrosit pada TBM menyebabkan anemia pada pasien TBM sehingga memerlukan dilakukan transfusi.
2. Pemberian transfusi menyebabkan hiperferitinemia sehingga terjadi penumpukan besi di organ-organ antara lain organ ginjal, dan pemberian preparat khelasi besi yang bersifat toksik untuk ginjal juga bisa memperberat gangguan ginjal.
3. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* mempunyai kelebihan dapat mendeteksi gangguan ginjal akut secara awal dalam waktu 34 jam lebih dini dari

serum kreatinin, pengambilan sampel secara non invasif dan disekresikan dari sel epitel tubulus bila terjadi gangguan atau kerusakan ginjal seperti GGA.

C. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka disusunlah pertanyaan penelitian sebagai berikut : apakah terdapat korelasi antara kadar NGAL urin dengan status hiperferitinemia pada anak dengan TBM ?

D. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara kadar NGAL urin dengan status hiperferitinemia pada anak dengan TBM.

E. Manfaat Penelitian

Bila didapatkan korelasi yang kuat antara kadar NGAL urin yang merupakan petanda kerusakan tubulus ginjal dengan status hiperferitinemia, maka diharapkan pemeriksaan status hiperferitinemia dapat menjadi prediktor terjadinya gangguan fungsi ginjal pada anak dengan TBM.

F. Keaslian Penelitian

Tabel 1. Macam-macam penelitian kelainan ginjal pada pasien TBM.

No	Peneliti dan Judul Penelitian	Jumlah Subjek	Tujuan dan Hasil Penelitian
1.	Penelitian Wirawan <i>et al.</i> (2003). <i>Renal impairment in β thalassemia major patients receiving repeated blood transfusion.</i>	75	- Mengetahui adanya gangguan fungsi ginjal pada penderita TBM berumur 15-28 tahun yang telah mendapatkan 6 unit packed red cells. Pada penelitian diperiksa kadar atau serum <i>iron</i> (SI) dan <i>total iron binding capacity</i> (TIBC) serta kadar mikroalbumin dan β 2-mikroglobulin dalam urin.

			- Total pasien 78,6% mengalami gangguan ginjal dimana 94,7% pasien mengalami peningkatan saturasi transferin, 40% mengalami hemokromatosis, 73,4% mikroalbuminuria, 1,3% albuminuria. 21,3% mengalami peningkatan $\beta 2$ mikroglobulin.
2.	Penelitian Roudkenar <i>et al</i> (2008). <i>Upregulation of Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin, NGAL/Lcn2, in β Thalassemia Patients</i>	34	- Membuktikan apakah NGAL terupregulasi pada pasien TBM yang disebabkan oleh stres oksidatif. - Terdapat korelasi positif antara NGAL dengan feritin ($r = 0.707$, $p = 0.003$). Ekspresi NGAL tidak dipengaruhi gender
3.	Penelitian Patsaoura <i>et al</i> (2014). <i>Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels are markedly increased in patients with non-transfusion-dependent thalassemia: Lack of association with markers of erythropoiesis, iron metabolism and renal function.</i>	35	- Mengetahui kadar NGAL pasien talasemia yang tidak ditransfusi berhubungan dengan kerusakan ginjal, deposit besi, eritropoiesis dan atau inflamasi. - Kadar NGAL lebih tinggi pada pasien talasemia dibandingkan dengan kontrol ($139,1 \pm 86,1$ vs $51,2 \pm 11.8 \mu\text{g/L}$, $p < 0,001$). Parameter yang digunakan hemoglobin, hemoglobin fetus, saturasi transferin, feritin, <i>high sensitivity c reactive protein</i> , cystatin c, $\beta 2$ mikroglobulin, dan estimasi <i>glomerulus filtration rate</i> .

Sepengetahuan penulis, penelitian yang meneliti tentang kelainan fungsi ginjal pada pasien TBM yang rutin ditransfusi belum ada. Penelitian-penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan antara lain meneliti dengan penanda yang berbeda dengan mekanisme yang berbeda pada kasus berbeda.